

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 25/07/2020.

**ANÁLISE ESTRUTURAL DO COMPONENTE
TELOMERASE TRANSCRIPTASE REVERSA DE
Leishmania major.**

MARÍA ALEJANDRA VIVIESCAS MALDONADO

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
CAMPUS DE BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**ANÁLISE ESTRUTURAL DO COMPONENTE
TELOMERASE TRANSCRIPTASE REVERSA DE *Leishmania*
*major***

MARIA ALEJANDRA VIVIESCAS MALDONADO

ORIENTADORA: MARIA ISABEL NOGUEIRA CANO

CO-ORIENTADOR: CARLOS ALEXANDRE HENRIQUE FERNANDES

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, *Campus* de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutor no Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas
(Genética).

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Victor e María Mercedes, porque seu envolvimento na área acadêmica me fez sonhar desde pequena com obter um dia o título de doutora.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Maldonado, Maria Alejandra Viviescas.

Análise estrutural do componente telomerase transcritase reversa de Leishmania major. / Maria Alejandra Viviescas Maldonado. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Maria Isabel Nogueira Cano

Coorientador: Carlos Alexandre Henrique Fernandes

Capes: 20804008

1. Leishmania. 2. Telômero. 3. Telomerase. 4. Bioinformática.
5. Proteínas - Análise.

Palavras-chave: Leishmania; bioinformatica; estrutura;
telomerase; telômeros.

AGREDECIMENTOS

Aos meus pais, Victor Viviescas e María Mercedes Maldonado e minha irmã Mariana Viviescas porque sem eles, eu não seria a pessoa que sou hoje.

Ao meu parceiro, Ariel Barcellos, pela companhia e apoio nos momentos difíceis e por me emprestar seu computador com sistema operativo Linux, onde o PyMol roda muito mais rápido. Também a Vera, Otto e Davi, por terem me acolhido e acompanhado durante o doutorado.

Aos membros da minha família, especialmente minha prima Luisa Riviere, pelo seu apoio e amor durante todos os momentos da minha vida.

À Profa. Dra. Maria Isabel Nogueira Cano, por me acolher no seu grupo de pesquisa, me permitir desenvolver minha pesquisa no seu laboratório e pela sua orientação durante o doutorado.

Ao Dr. Carlos Alexandre Henrique Fernandes, pela sua co-orientação durante o doutorado e por me ensinar tudo o que eu sei sobre biologia estrutural.

Ao Prof. Dr. Marcos Roberto de Mattos Fontes, por me permitir fazer uso do seu laboratório e equipamentos.

Aos integrantes e ex-integrantes do Laboratório de Telômeros pelo apoio, companheirismo e convívio: Marcelo Santos da Silva, Marcela Segatto, Edna Gicela Ortiz Morea, Marina Roveri, Whisnayder Gentil, Alessandro Vassilievitch, Gabriel Arantes e Camila Storti. Um agradecimento especial a Cristiane de Santis pela força no meu português e aos meus estudantes de iniciação científica, Vitor Da Silva e Stephany Paiva, por me permitirem transmitir meu conhecimento, pelo apoio com alguns experimentos e por levar este projeto adiante.

Aos integrantes e ex-integrantes do Laboratório de Biologia Molecular Estrutural, por me fazerem sentir como parte do grupo, Guilherme Salvador, Fábio Cardoso, Andrea Barros, Lino de Lima, e especialmente ao Fabio Matioli pela sua ajuda na geração dos modelos tridimensionais.

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, nº do processo 161947/2014-0

À FAPESP pelo apoio geral ao meu Projeto de Doutorado que esteve vinculado ao Projeto Temático 2012/50161-8

Ao programa de Pós-graduação de Ciências Biológicas Área de Concentração Genética.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Julho de Mesquita Filho” - UNESP.

“Eu faço parte dos pensam que a Ciência é belíssima.
Um cientista em um laboratório não é apenas um técnico,
ele é também uma criança diante de fenômenos
naturais que o impressionam como um conto de fadas.”

Marie Curie

SUMÁRIO

Lista de Figuras	iii
Lista de Tabelas.....	v
Resumo.....	vi
Abstract	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Parasitos do gênero <i>Leishmania</i> e Leishmaniose	1
1.2. Telômeros e telomerase.....	5
1.3. Telômeros como alvo terapêutico	12
1.4 Estrutura do complexo telomerase	13
1.4.1. TERT, o componente proteico da telomerase	15
1.4.2 O componente RNA (TER) da telomerase.....	29
1.5 Telômeros de <i>Leishmania</i> sp.....	32
1.5.1 Complexo telomérico de <i>Leishmania</i> sp.	32
1.5.2 Características do complexo telomerase em <i>Leishmania</i> sp.	33
2. OBJETIVOS	36
3. MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1 Alinhamento de sequências e predição da estrutura secundária.....	37
3.2 Modelagem molecular e simulações de dinâmica molecular	37
3.3 <i>Docking</i> Molecular.....	38
3.4 Estudos filogenéticos.....	39
3.5 Desenho e construção dos vetores de expressão com os domínios TEN, RT e TRB da telomerase de <i>L. major</i>	40
3.6 Testes de mini-indução de proteína heteróloga em sistema bacteriano	42
3.7 Purificação do domínio TEN a partir da fração insolúvel do extrato proteico.....	43
3.8 Purificação do domínio TEN a partir da fração solúvel do extrato proteico.....	43
3.9 Re-enovelamento do domínio TEN purificado a partir da fração insolúvel.....	44
3.10 Recuperação de proteínas recombinantes contidas em corpúsculos de inclusão	45
3.11 <i>Western blot</i>	45
3.12 Formação de duplex parcial de oligonucleotídeos para ensaio de CD e fluorescência.....	46
3.13 Espectroscopia de dicroísmo circular (CD).....	46
3.14 Espectroscopia de fluorescência estática.....	47
3.15 Cromatografia analítica de exclusão molecular	47
3.16 Transformação de células competentes de <i>Pichia pastoris</i> KM71H.....	48
3.17 Teste de mini-indução em leveduras	48

4. Resultados e discussão	50
4.1. O componente TERT de <i>Leishmania</i> é o mais basal entre os eucariotos.....	50
4.2 Caracterização estrutural do domínio TEN do TERT de <i>Leishmania</i> sp.	53
4.3 Obtenção do domínio TEN recombinante e estudos estruturais com este domínio	59
4.4 Caracterização estrutural do domínio TRB do TERT de <i>Leishmania</i> sp.	75
4.4.1 Análise estrutural do motivo T em <i>L. major</i>	80
4.4.2 Análise estrutural do motivo CP em <i>L. major</i>	85
4.4.3 Análise estrutural do mecanismo de interação entre o domínio TRB e o componente TER em <i>L. major</i>	88
4.5 Expressão do domínio TRB de <i>L. major</i> em modelo heterólogo	102
4.6 Caracterização do domínio RT de <i>Leishmania</i> sp.	104
4.6.1 Análise dos motivos IFD e 3	106
4.6.2 Caracterização estrutural da fração catalítica do TERT de <i>L. major</i>	107
4.6.3 Caracterização estrutural do domínio RT de <i>L. major</i>	108
4.7 Obtenção do domínio RT recombinante	113
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	117
6. Bibliografia	121
ANEXOS.....	129
Anexo 1: Fragmentos clonados nos vetores de expressão	129
Anexo 2: Sequências utilizadas para se fazer o cladograma	130
Anexo 3: Alinhamento múltiplo de sequência entre diferentes espécies de <i>Leishmania</i> sp.	135
Anexo 4: Alinhamento de sequência múltiplo entre diferentes Trypanossomatídeos.....	137
APÊNDICES.....	139
Apêndice 1: Capítulo de livro: “NUCLEAR AND KINETOPLAST DNA REPLICATION IN TRYPANOSOMATIDS”	139
Apêndice 2: Artigo publicado em BBA-General Subjects: “A calmodulin-like protein (LCALA) is a new <i>Leishmania amazonensis</i> candidate for telomere end-binding protein”.....	140
Apêndice 3: Artigo publicado em Biochemie: “Structural studies with BnSP-7 reveal an atypical oligomeric conformation compared to phospholipases α -like toxins”	141
Apêndice 4: Artigo aceito para publicação em Current Proteomics “Chaperones and Their Role in Telomerase Ribonucleoprotein Biogenesis and Telomere Maintenance”.....	141

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de desenvolvimento de <i>Leishmania</i> sp.....	2
Figura 2. Conformações do DNA telomérico	7
Figura 3. O ciclo catalítico da telomerase	9
Figura 4. Representação esquemática das holoenzimas telomerasas em diferentes organismos	11
Figura 5. Esquema estrutural das telomerasas.....	18
Figura 6. Representação estrutural do domínio TEN do TERT	22
Figura 7. Representação estrutural do domínio TRB do TERT	25
Figura 8. Representação estrutural domínio RT.....	27
Figura 9. Representação estrutural do domínio CTE	29
Figura 10. Elementos estruturais conservados do componente TER de diferentes grupos de organismos	31
Figura 11. Panorama atual da composição da cromatina telomérica de <i>Leishmania</i> sp.	33
Figura 12. Predição da estrutura secundária de TER em <i>L. major</i>	35
Figura 13. Mapa do vetor de expressão contendo o domínio TEN de <i>L. major</i>	41
Figura 14. Mapa do vetor de expressão contendo o domínio RT de <i>L. major</i>	41
Figura 15. Mapa do vetor de expressão contendo o domínio TRBD de <i>L. major</i>	42
Figura 16. Cladograma dos componentes TERT de diferentes eucariotos	50
Figura 17. Delimitação dos domínios estruturais na estrutura primária de <i>L. major</i>	53
Figura 18. Alinhamento múltiplo de sequências entre os domínios TEN dos TERT de <i>Leishmania</i> e mamíferos	55
Figura 19. Predição de estrutura secundária do domínio TEN de <i>L. major</i>	58
Figura 20. Teste de mini-indução de bactérias <i>E. coli</i> BL21 DE3 códon plus transformadas com pET28a-domínio TEN.....	59
Figura 21. Purificação do domínio TEN do TERT de <i>L. major</i> a partir da fração insolúvel do extrato proteico de bactérias <i>E. coli</i> DE3 códon plus, por cromatografia de troca aniônica.....	61
Figura 22. Avaliação do estado de enovelamento do domínio TEN purificado	63
Figura 23. <i>Western blot</i> confirmando a purificação do domínio TEN recombinante	64
Figura 24. Espectros de Dicroísmo circular e fluorescência estática do domínio TEN purificado na presença de DNA telomérico.....	66
Figura 25. Cromatografia analítica de exclusão por tamanho do domínio TEN.....	68
Figura 26. Comprovação de contaminação com DNA bacteriano em amostras proteicas contendo o domínio TEN.	69
Figura 27. Tratamento do pellet bacteriano com N-Lauryl sarcosine durante a lise.....	71
Figura 28. Tentativa de purificação do domínio TEN expresso a partir da fração solúvel do extrato proteico mediante cromatografia de troca iônica	72

Figura 29. Tentativa de purificação do domínio TEN expresso a partir da fração solúvel do extrato proteico mediante cromatografia de afinidade	73
Figura 30. <i>Western blot</i> comprovando que o domínio TEN foi expresso na fração solúvel do extrato proteico.....	74
Figura 31. Alinhamento de sequências do domínio TRB e demarcação da posição dos motivos	77
Figura 32. Predição da estrutura terciária do domínio TRB de <i>L. major</i>	79
Figura 33. Modificações no motivo T causadas pelas substituições presentes em <i>L. major</i>	82
Figura 34. Detalhe da pinça hidrofóbica no motivo T	84
Figura 35. Detalhes da interação entre o motivo CP e o motivo T	86
Figura 36. Detalhe dos motivos T e CP	88
Figura 37. Resíduos do modelo tridimensional do TRBD de <i>L. major</i> escolhidos como alvo para <i>docking</i> molecular.	89
Figura 38. Detalhe da região de interação entre o componente TBE e o domínio TRB	93
Figura 39. Análise de interações entre o domínio TRB de <i>T. thermophila</i> e a fita A do elemento TBE	95
Figura 40. Análise de interações entre o domínio TRB de <i>T. thermophila</i> e a fita B do elemento TBE	96
Figura 41. Análise de interações entre o domínio TRB de <i>L. major</i> e a fita A do elemento TBE	97
Figura 42. Análise de interações entre o domínio TRB de <i>L. major</i> e a fita B do elemento TBE	98
Figura 43. Motivos CP2 e TFLY	101
Figura 44. <i>Western blot</i> da mini indução do domínio TRB de <i>L. major</i> em <i>P. pastoris</i>	103
Figura 45. Alinhamento de sequência múltiplo do domínio RT	105
Figura 46. Comparação das superfícies da telomerase de <i>T. castaneum</i> e de <i>L. major</i>	108
Figura 47. Estrutura terciária do domínio RT de <i>L. major</i>	109
Figura 48. Conservação estrutural dos motivos do domínio RT em <i>L. major</i>	110
Figura 49. Conservação estrutural do sitio ativo do TERT em <i>L. major</i>	112
Figura 50. Teste de expressão e de solubilidade do domínio RT de <i>L. major</i> usando <i>E. coli</i> BL21 Artic Express pRIL	114
Figura 51. Purificação do domínio RT mediante isolamento de corpúsculos de inclusão.....	115
Figura 52. <i>Western blot</i> do domínio RT do TERT de <i>L. major</i> após purificação por isolamento de corpúsculos de inclusão	116
Figura 53. Fluorescência estática do domínio RT de <i>L. major</i> re-novelado	117

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Oligonucleotídeos utilizados neste trabalho	49
Tabela 2. Comparação entre as sequências primárias dos componentes TERT de protozoários dos gêneros <i>Leishmania</i> e <i>Trypanosoma</i>	52
Tabela 3. Homologia estrutural entre o domínio TEN de LmTERT com estruturas cristalográficas depositados em PDB	56
Tabela 4. Resíduos conservados no motivo T de diferentes organismos, o asterisco denota que o resíduo não é conservado em <i>L. major</i> quando comparado com os eucariotos derivados.....	81
Tabela 5. Valores obtidos para cada um dos alvos após o <i>Docking</i> molecular.....	91
Tabela 6. Resumos das interações hidrostáticas e ligações de hidrogênio entre o componente TBE e o domínio TBD em <i>T. thermophila</i> e <i>L. major</i>	99
Tabela 7. Resíduos do motivo 3 importantes para a processividade do TERT humanos, o asterisco denota um resíduo não conservado	106

RESUMO

Os parasitos do gênero *Leishmania* são protozoários primitivos entre os quais estão os causadores de um espectro de doenças conhecidas como leishmaniose, as quais afetam milhões de pessoas no mundo inteiro, sendo o Brasil um dos países que apresenta maior número de casos por ano. Os tratamentos e vacinas disponíveis para a leishmaniose apresentam problemas como toxicidade, alto custo e baixa eficiência, tornando importante a busca por novos alvos terapêuticos. Dada sua importância para a estabilidade genômica e proliferação celular, os telômeros têm sido considerados como alvos terapêuticos potenciais no tratamento da leishmaniose. Os telômeros são as extremidades físicas dos cromossomos lineares compostos por complexos ribonucleoproteicos que envolvem a interação entre proteínas, DNA e RNA. A maioria dos eucariotos mantém o tamanho dos telômeros pela ação do complexo telomerase, que é minimamente composto por uma proteína (TERT, *Telomerase Reverse Transcriptase*) e um RNA longo não codificador (TER, *Telomerase RNA*). Os dois componentes do complexo telomerase em *Leishmania* sp. foram identificados, porém não há informação disponível sobre suas estruturas. O objetivo principal deste estudo foi a caracterização estrutural do componente TERT de *Leishmania major*. Utilizando alinhamentos múltiplos de sequências, foi possível verificar que os quatro domínios estruturais das telomerases canônicas estão presentes no componente TERT em *Leishmania* sp. Três destes domínios foram estudados independentemente utilizando várias ferramentas de bioinformática. O domínio TEN (*Telomerase essential N-terminal*) é o mais amino-terminal e é importante na interação com o DNA telomérico e proteínas teloméricas. Em *L. major*, este domínio mostra uma baixa conservação de estrutura primária quando comparado com outros eucariotos, mas preserva o único motivo estrutural. Este domínio está composto principalmente por elementos desordenados e hélices- α e mostra uma baixa conservação de estrutura primária quando comparado com outros eucariotos, mas preserva seu motivo funcional característico. O domínio TRB (*Telomerase RNA Binding*) é importante na interação entre o componente TERT e o componente TER. Em *L. major*, o domínio TRB apresenta uma conservação estrutural parcial, mas possui substituições em resíduos de aminoácidos próprias do gênero *Leishmania* que poderiam alterar o mecanismo de interação TERT/TER. O domínio RT é o centro catalítico do TERT. Este domínio é altamente conservado em *L. major* e apresenta conservação de todos os motivos funcionais, assim como do centro catalítico. Para corroborar os resultados *in silico* com dados experimentais, os três domínios foram individualmente expressos em sistema heterólogo e protocolos de purificação das proteínas recombinantes são apresentados. O objetivo é utilizar estas proteínas em estudos de interação proteínas-ácidos nucleicos e proteína-proteína para verificar o grau de conservação destas interações, uma vez que nesses parasitos o TERT compartilha características estruturais com outros TERT, embora também apresente peculiaridades do gênero. Os resultados gerados neste trabalho podem fornecer conhecimento sobre a evolução da enzima telomerase e indicar se a telomerase de *L. major* poderá ser considerada um alvo terapêutico parasita-específico.

Palavras chave: *Leishmania*, telômeros, telomerase, estrutura, bioinformática.

ABSTRACT

Parasites of the *Leishmania* genus are primitive protozoa and among them are the causative agents of a spectrum of diseases called leishmaniasis, which affect millions of people in tropical countries worldwide, being Brazil one of the countries with higher number of cases each year. The drugs or vaccines available to treat leishmaniasis present problems such as toxicity, excessive cost a low efficiency, so it is important to search for new potential therapeutic targets. Due to their importance in genome stability and cell proliferation, telomeres have been considered a potential therapeutic target against leishmaniasis. Telomeres are the ends of linear chromosomes composed by ribonucleoproteic complexes that involve the interaction between proteins, DNA and RNA. Most eukaryotes maintain their telomere length by the action of the telomerase complex, minimally composed by a protein (TERT, Telomerase Reverse Transcriptase) and a long non-coding RNA (TER, Telomerase RNA). Both components of the *Leishmania* sp. telomerase complex have already been identified, however, little is known about their structure. This study had the aim to characterize the structure of the *Leishmania major* TERT component. Using multiple sequence alignments, we were able to verify that the four structural domains of canonical telomerases are present in *Leishmania* sp. Using different bioinformatic approaches three of these domains were independently studied. The TEN (Telomerase essential N-terminal) domain is the most amino-terminal and is involved in the interaction between TERT, telomeric DNA and accessory proteins. In *L. major* this domain is mainly composed by unordered regions and α helixes showing little primary structure conservation when compared to other eukaryotes, although it preserves its unique structural motif. The TRB (Telomerase RNA binding) domain is important for the interaction between TERT and TER. In *L. major* the TRB domain shows partial structural conservation but presents characteristics that are specific to the genus and that could alter the mechanism of TERT/TER interaction. The RT (Reverse transcriptase) domain is the catalytic center of TERT. It is structurally conserved in *L. major*, presenting all the functional motifs and conservation of the catalytic core. To corroborate our *in-silico* results with experimental data, we independently expressed all three domains using heterologous system and purification protocols are presented. Our goal is to perform protein-protein and protein-nucleic acid interaction assays to verify how conserved are these interactions. In these protozoa, TERT shares conserved structural features with other TERT but also present its own peculiarities. The results gathered from these studies will provide insights on the evolution of the telomerase enzyme and will help to determine if *L. major* telomerase could be considered a parasite-specific therapeutic target.

Keywords: *Leishmania*, telomeres, telomerase, structure, bioinformatic

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	grau centígrado
Å	Angstrom
<i>g</i>	Força gravitacional
K	Graus Kelvin
kDa	KiloDaltons
M	Molar
mg	Miligramas
ml	Mililitro
pH	Potencial de hidrogênios
ps	Picosegundos
rpm	Rotações por minuto
μ	micro

CD	Dicroísmo circular
CTE	<i>C-terminal extension</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
et al	E colaboradores
FISH	<i>Fluorescence in situ hybridization</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IPTG	Isopropyl-B-D-Galactoside
LaTERT	TERT de <i>Leishmania amazonensis</i>
LCTAS	<i>Leishmania conserved telomere associated sequences</i>
NMR	Ressonância magnética nuclear
PBD	<i>Protein Data Bank</i>
POT1	<i>Protection of Telomeres 1</i>
RAP1	<i>Repressor-Activator protein 1</i>
RNA	Ácido ribonucleico
RT	<i>Reverse transcriptase</i>
TBE	<i>template boundary element</i>
TEN	<i>Telomerase essential N-terminal</i>
TER	<i>Telomerase RNA</i>
TERT	<i>Telomerase reverse transcriptase</i>

TIN2	<i>TRF1-interacting protein 2</i>
TPP1	<i>TIN2 e POT1 Interacting Factor</i>
TRB	<i>Telomerase RNA binding</i>
TRF1	<i>Telomeric Repeat Factor 1</i>
TRF2	<i>Telomeric Repeat Factor 2</i>

6. BIBLIOGRAFIA

- AKHOUNDI, M.; KUHL, K.; CANNET, A.; et al. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004349, 2016. Public Library of Science.
- ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN, D. J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, n. 3, p. 403–410, 1990.
- ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERN, C.; et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. (M. Kirk, Ed.) **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. e35671, 2012.
- ARMBRUSTER, B. N.; BANIK, S. S. R.; GUO, C.; SMITH, A. C.; COUNTER, C. M. N-terminal domains of the human telomerase catalytic subunit required for enzyme activity in vivo. **Mol Cell Biol**, v. 21, n. 22, p. 7775–7786, 2001.
- AUTEXIER, C.; LUE, N. F. The Structure and Function of Telomerase Reverse Transcriptase. **Annual Review of Biochemistry**, v. 75, n. 1, p. 493–517, 2006.
- BAJON, E.; LATERREUR, N.; WELLINGER, R. J. A Single Templating RNA in Yeast Telomerase. **Cell Reports**, v. 12, n. 3, p. 441–448, 2015.
- BANIK, S. S. R.; GUO, C.; SMITH, A. C.; et al. C-terminal regions of the human telomerase catalytic subunit essential for in vivo enzyme activity. **Molecular and cellular biology**, v. 22, n. 17, p. 6234–46, 2002. American Society for Microbiology (ASM).
- BARRY, J. D.; GINGER, M. L.; BURTON, P.; MCCULLOCH, R. Why are parasite contingency genes often associated with telomeres? **International journal for parasitology**, v. 33, n. 1, p. 29–45, 2003.
- BEATTIE, T. L.; ZHOU, W.; ROBINSON, M. O.; HARRINGTON, L. Reconstitution of human telomerase activity in vitro. **Current Biology**, v. 8, n. 3, p. 177–180, 1998.
- BERARDINELLI, F.; COLUZZI, E.; SGURA, A.; ANTOCCIA, A. Targeting telomerase and telomeres to enhance ionizing radiation effects in in vitro and in vivo cancer models. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 773, p. 204–219, 2017.
- BERMAN, J. Recent Developments in Leishmaniasis: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. **Current infectious disease reports**, v. 7, n. 1, p. 33–38, 2005.
- BLACKBURN, E. H. Telomeres: no end in sight. **Cell**, v. 77, n. 5, p. 621–3, 1994.
- BLACKBURN, E. H.; COLLINS, K. Telomerase: An RNP Enzyme Synthesizes DNA. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 3, n. 5, p. a003558–a003558, 2011.
- BLACKBURN, E. H.; GALL, J. G. A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in Tetrahymena. **Journal of molecular biology**, v. 120, n. 1, p. 33–53, 1978.
- BLASCO, M. A. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. **Nature Reviews Genetics**, v. 6, n. 8, p. 611–622, 2005.
- BOSOY, D.; PENG, Y.; MIAN, I. S.; LUE, N. F. Conserved N-terminal motifs of telomerase reverse transcriptase required for ribonucleoprotein assembly in vivo. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 6, p. 3882–3890, 2003.
- BRYAN, C.; RICE, C.; HOFFMAN, H.; et al. Structural Basis of Telomerase Inhibition by the Highly Specific BIBR1532. **Structure**, v. 23, n. 10, p. 1934–1942, 2015.
- BRYAN, T. M.; GOODRICH, K. J.; CECH, T. R. Telomerase RNA bound by protein motifs specific to telomerase reverse transcriptase. **Molecular cell**, v. 6, p. 493–499, 2000.
- CANO, M. I. Telomere biology of trypanosomatids: more questions than answers. **Trends in**

parasitology, v. 17, n. 9, p. 425–9, 2001.

CANO, M. I.; DUNGAN, J. M.; AGABIAN, N.; BLACKBURN, E. H. Telomerase in kinetoplastid parasitic protozoa. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 7, p. 3616–21, 1999.

CASH, D. D.; FEIGON, J. Structure and folding of the Tetrahymena telomerase RNA pseudoknot. **Nucleic Acids Research**, 2017.

CHAN, A.; BOULÉ, J.-B.; ZAKIAN, V. A.; MCELVER, J.; WEBER, S. Two Pathways Recruit Telomerase to *Saccharomyces cerevisiae* Telomeres. (S. Biggins, Ed.) **PLoS Genetics**, v. 4, n. 10, p. e1000236, 2008. Public Library of Science.

CHAN, H.; WANG, Y.; FEIGON, J. Progress in Human and Tetrahymena Telomerase Structure Determination. **Annual Review of Biophysics**, v. 46, n. 1, p. 199–225, 2017.

CHAPPUIS, F.; SUNDAR, S.; HAILU, A.; et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 11, p. S7–S16, 2007. Nature Publishing Group.

CHEN, J.-L.; GREIDER, C. W. An emerging consensus for telomerase RNA structure. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 41, p. 14683–4, 2004. National Academy of Sciences.

CHEN, J. L.; GREIDER, C. W. Template boundary definition in mammalian telomerase. **Genes and Development**, v. 17, n. 22, p. 2747–2752, 2003.

CHRISTEN, M.; HÜNENBERGER, P. H.; BAKOWIES, D.; et al. The GROMOS software for biomolecular simulation: GROMOS05. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1719–1751, 2005.

COHEN, P.; BLACKBURN, E. H. Two types of telomeric chromatin in *Tetrahymena thermophila*. **Journal of Molecular Biology**, v. 280, n. 3, p. 327–344, 1998.

COLLINS, K. The biogenesis and regulation of telomerase holoenzymes. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 7, n. 7, p. 484–94, 2006.

COLLINS, K.; GANDHI, L. The reverse transcriptase component of the *Tetrahymena* telomerase ribonucleoprotein complex. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 15, p. 8485–90, 1998.

COLLINS, K.; RICHARDS, R. J.; WU, H.; et al. Structural study of elements of *Tetrahymena* telomerase RNA stem-loop IV domain important for function. **RNA (New York, N.Y.)**, v. 12, n. 8, p. 1475–85, 2006.

CONTE, F. F.; CANO, M. I. N. Genomic organization of telomeric and subtelomeric sequences of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 13, p. 1435–1443, 2005.

CREGG, J. M. Introduction. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**. v. 389, p.1–10, 2007.

CROFT, S. L.; SUNDAR, S.; FAIRLAMB, A. H. Drug Resistance in Leishmaniasis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 111–126, 2006.

DEY, A.; CHAKRABARTI, K. Current perspectives of telomerase structure and function in eukaryotes with emerging views on telomerase in human parasites. **International Journal of Molecular Sciences**, 2018.

DIDWANIA, N.; SHADAB, M.; SABUR, A.; ALI, N. Alternative to chemotherapy-the Unmet demand against leishmaniasis. **Frontiers in Immunology**, v. 21, n. 12, 2017.

DMITRIEV, P. V; PETROV, A. V; DONTSOVA, O. A. Yeast telosome complex: components and their functions. **Biochemistry. Biokhimiia**, v. 68, n. 7, p. 718–34, 2003.

DOMINGUEZ, C.; BOELENS, R.; BONVIN, A. M. J. J. HADDOCK: A Protein–Protein Docking Approach Based on Biochemical or Biophysical Information. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 7, p. 1731–1737, 2003.

DREESEN, O.; CROSS, G. A. M. Telomere length in *Trypanosoma brucei*. **Experimental parasitology**, v. 118, n. 1, p. 103–10, 2008. NIH Public Access.

EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic acids research**, v. 32, n. 5, p. 1792–7, 2004.

FERNANDES, C. A. H.; PEREZ, A. M.; BARROS, A. C.; et al. Dual cellular localization of the *Leishmania amazonensis* Rbp38 (LaRbp38) explains its affinity for telomeric and mitochondrial DNA. **In preparation**.

FERNÁNDEZ, M. F.; CASTELLARI, R. R.; CONTE, F. F.; et al. Identification of three proteins that associate in vitro with the *Leishmania (Leishmania) amazonensis* G-rich telomeric strand. **European Journal of Biochemistry**, v. 271, n. 14, p. 3050–3063, 2004.

FIGUEIREDO, L. M.; FREITAS-JUNIOR, L. H.; BOTTIUS, E.; OLIVO-MARIN, J.-C.; SCHERF, A. A central role for *Plasmodium falciparum* subtelomeric regions in spatial positioning and telomere length regulation. **The EMBO Journal**, v. 21, n. 4, p. 815–824, 2002.

FRIEDMAN, K. L.; CECH, T. R. Essential functions of amino-terminal domains in the yeast telomerase catalytic subunit revealed by selection for viable mutants. **Genes and Development**, v. 13, n. 21, p. 2863–2874, 1999.

FU, G.; BARKER, D. C. Rapid cloning of telomere-associated sequence using primer-tagged amplification. **BioTechniques**, v. 24, n. 3, p. 386–90, 1998.

GHORBANI, M.; FARHOUDI, R. Leishmaniasis in humans: Drug or vaccine therapy? **Drug Design, Development and Therapy**, v. 22, n. 12, p. 25–40, 2018.

GIARDINI, M. A.; FERNÁNDEZ, M. F.; LIRA, C. B. B.; CANO, M. I. N. *Leishmania amazonensis*: Partial purification and study of the biochemical properties of the telomerase reverse transcriptase activity from promastigote-stage. **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 243–248, 2011.

GIARDINI, M. A.; LIRA, C. B. B.; CONTE, F. F.; et al. The putative telomerase reverse transcriptase component of *Leishmania amazonensis*: Gene cloning and characterization. **Parasitology Research**, v. 98, n. 5, p. 447–454, 2006.

GIARDINI, M. A.; SEGATTO, M.; SILVA, M. S. DA; NUNES, V. S.; CANO, M. I. N. Telomere and Telomerase Biology. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**. v. 125, p.1–40, 2014.

GILLIS, A. J.; SCHULLER, A. P.; SKORDALAKES, E. Structure of the *Tribolium castaneum* telomerase catalytic subunit TERT. **Nature**, v. 455, n. October, p. 633–638, 2008.

GREIDER, C. W.; BLACKBURN, E. H. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. **Cell**, v. 43, n. 2 Pt 1, p. 405–13, 1985.

GRIFFITH, J. D.; COMEAU, L.; ROSENFELD, S.; et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. **Cell**, v. 97, n. 4, p. 503–14, 1999.

GUGLIELMI, B.; WERNER, M. The Yeast Homolog of Human PinX1 Is Involved in rRNA and Small Nucleolar RNA Maturation, Not in Telomere Elongation Inhibition*. **Published JBC Papers in Press**, 2002.

GUPTA, S. K.; KOLET, L.; DONIGER, T.; et al. The *Trypanosoma brucei* telomerase RNA (TER) homologue binds core proteins of the C/D snoRNA family. **FEBS Letters**, v. 587, n. 9, p. 1399–1404, 2013.

HARKISHEIMER, M.; MASON, M.; SHUVAEVA, E.; SKORDALAKES, E. A Motif in the Vertebrate Telomerase N-Terminal Linker of TERT Contributes to RNA Binding and Telomerase Activity and

- Processivity. **Structure**, v. 21, n. 10, p. 1870–1878, 2013.
- HOFFMAN, H.; RICE, C.; SKORDALAKES, E. Structural Analysis Reveals the Deleterious Effects of Telomerase Mutations in Bone Marrow Failure Syndromes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 11, p. 4593–4601, 2017.
- HOLT, S. E.; AISNER, D. L.; BAUR, J.; et al. Functional requirement of p23 and Hsp90 in telomerase complexes. **Genes and Development**, v. 13, n. 7, p. 817–826, 1999.
- HUANG, J.; BROWN, A. F.; WU, J.; et al. Structural basis for protein-RNA recognition in telomerase. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 21, n. 6, p. 507–512, 2014.
- HUARD, S.; MORIARTY, T. J.; AUTEXIER, C. The C terminus of the human telomerase reverse transcriptase is a determinant of enzyme processivity. **Nucleic acids research**, v. 31, n. 14, p. 4059–70, 2003. Oxford University Press.
- HUELSENBECK, J. P.; RONQUIST, F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 17, n. 8, p. 754–5, 2001.
- JACOBS, S. A.; PODELL, E. R.; CECH, T. R. Crystal structure of the essential N-terminal domain of telomerase reverse transcriptase. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 13, n. 3, p. 218–225, 2006.
- JANSSON, L. I.; AKIYAMA, B. M.; OOMS, A.; et al. Structural basis of template-boundary definition in Tetrahymena telomerase. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 22, n. 11, p. 883–8, 2015.
- JIANG, J.; CHAN, H.; CASH, D. D.; et al. Structure of Tetrahymena telomerase reveals previously unknown subunits, functions, and interactions. **Science**, v. 350, n. 6260, p. aab4070-aab4070, 2015.
- JIANG, J.; MIRACCO, E. J.; HONG, K.; et al. The architecture of Tetrahymena telomerase holoenzyme. **Nature**, v. 496, n. 7444, p. 187–192, 2013.
- KELLEY, L. A.; MEZULIS, S.; YATES, C. M.; WASS, M. N.; STERNBERG, M. J. E. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. **Nature Protocols**, v. 10, n. 6, p. 845–858, 2015. Nature Research.
- KIM, N.-K.; ZHANG, Q.; ZHOU, J.; et al. Solution Structure and Dynamics of the Wild-type Pseudoknot of Human Telomerase RNA. **Journal of Molecular Biology**, v. 384, n. 5, p. 1249–1261, 2008.
- LAI, C. K.; MITCHELL, J. R.; COLLINS, K. L. RNA Binding Domain of Telomerase Reverse Transcriptase. **Molecular and cellular biology**, v. 21, n. 4, p. 990–1000, 2001.
- LANGE, T. DE. Opinion: T-loops and the origin of telomeres. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 5, n. 4, p. 323–329, 2004. Nature Publishing Group.
- LANGE, T. DE. Telomere-related Genome Instability in Cancer. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 70, p. 197–204, 2005.
- LANGE, T. DE. How telomeres solve the end-protection problem. **Science (New York, N.Y.)**, v. 326, n. 5955, p. 948–52, 2009.
- LEEPER, T.; LEULLIOT, N.; VARANI, G. The solution structure of an essential stem-loop of human telomerase RNA. **Nucleic acids research**, v. 31, n. 10, p. 2614–21, 2003.
- LENK, E. J.; REDEKOP, W. K.; LUYENDIJK, M.; et al. Socioeconomic benefit to individuals of achieving 2020 targets for four neglected tropical diseases controlled/eliminated by innovative and intensified disease management: Human African trypanosomiasis, leprosy, visceral leishmaniasis, Chagas disease. (C. M. Budke, Ed.) **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 3, p. e0006250, 2018.
- LEWIS, K. A.; WUTTKE, D. S. Telomerase and Telomere-Associated Proteins: Structural Insights into Mechanism and Evolution. **Structure**, v. 20, n. 1, p. 28–39, 2012.
- LICHT, J. D.; COLLINS, K. Telomerase RNA function in recombinant Tetrahymena telomerase. **Genes and Development**, v. 13, n. 9, p. 1116–1125, 1999.

LIN, J.; BLACKBURN, E. H. Nucleolar protein PinX1p regulates telomerase by sequestering its protein catalytic subunit in an inactive complex lacking telomerase RNA. **Genes and Development**, v. 18, n. 4, p. 387–396, 2004.

LIN, J.; LY, H.; HUSSAIN, A.; et al. A universal telomerase RNA core structure includes structured motifs required for binding the telomerase reverse transcriptase protein. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 41, p. 14713–8, 2004.

LINGNER, J.; CECH, T. R. Purification of telomerase from *Euplotes aediculatus*: requirement of a primer 3' overhang. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 20, p. 10712–7, 1996.

LINGNER, J.; HUGHES, T. R.; SHEVCHENKO, A.; et al. Reverse transcriptase motifs in the catalytic subunit of telomerase. **Science (New York, N.Y.)**, v. 276, n. 5312, p. 561–7, 1997.

LIRA, C. B. B.; GIARDINI, M. A.; NETO, J. L. S.; CONTE, F. F.; CANO, M. I. N. Telomere biology of trypanosomatids: beginning to answer some questions. **Trends in Parasitology**, v. 23, n. 8, p. 357–362, 2007.

LIRA, C. B. B.; GUI, K. E.; PEREZ, A. M.; et al. DNA and heparin chaperone the refolding of purified recombinant replication protein A subunit 1 from *Leishmania amazonensis*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1790, n. 2, p. 119–125, 2009.

LIRA, C. B. B.; SIQUEIRA NETO, J. L. DE; KHATER, L.; et al. LaTBP1: A *Leishmania amazonensis* DNA-binding protein that associates in vivo with telomeres and GT-rich DNA using a Myb-like domain. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 465, n. 2, p. 399–409, 2007.

LIRA, C. B. B.; SIQUEIRA NETO, J. L.; GIARDINI, M. A.; et al. LaRbp38: A *Leishmania amazonensis* protein that binds nuclear and kinetoplast DNAs. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 358, n. 3, p. 854–860, 2007.

LUE, N. F. Adding to the ends: What makes telomerase processive and how important is it? **BioEssays**, v. 26, n. 9, p. 955–962, 2004.

LUE, N. F.; LIN, Y.-C.; MIAN, I. S. A conserved telomerase motif within the catalytic domain of telomerase reverse transcriptase is specifically required for repeat addition processivity. **Molecular and cellular biology**, v. 23, n. 23, p. 8440–9, 2003.

MACNEIL, D.; BENSOUSSAN, H.; AUTEXIER, C. Telomerase Regulation from Beginning to the End. **Genes**, v. 7, n. 9, p. 64, 2016.

MADDISON, W. P. MADDISON, D. R. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.72. , 2011.

MALYAVKO, A. N.; PARFENOVA, Y. Y.; ZVEREVA, M. I.; DONTSOVA, O. A. Telomere length regulation in budding yeasts. **FEBS Letters**, v. 588, n. 15, p. 2530–2536, 2014.

MASON, M.; SCHULLER, A.; SKORDALAKES, E. Telomerase structure function. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 21, n. 1, p. 92–100, 2011.

MCWILLIAM, H.; LI, W.; ULUDAG, M.; et al. Analysis Tool Web Services from the EMBL-EBI. **Nucleic acids research**, v. 41, n. Web Server issue, p. W597-600, 2013.

MERGNY, J.-L.; RIOU, J.-F.; MAILLIET, P.; TEULADE-FICHO, M.-P.; GILSON, E. Natural and pharmacological regulation of telomerase. **Nucleic acids research**, v. 30, n. 4, p. 839–65, 2002. Oxford University Press.

MITCHELL, M.; GILLIS, A.; FUTAHASHI, M.; FUJIWARA, H.; SKORDALAKES, E. Structural basis for telomerase catalytic subunit TERT binding to RNA template and telomeric DNA. **Nature structural & molecular biology**, v. 17, n. 4, p. 513–518, 2010.

MOREA, E. G. O.; VIVIESCAS, M. A.; FERNANDES, C. A. H.; et al. A calmodulin-like protein

(LCALA) is a new *Leishmania amazonensis* candidate for telomere end-binding protein. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1861, n. 11, p. 2583–2597, 2017.

MORIARTY, T. J.; MARIE-EGYPTIENNE, D. T.; AUTEXIER, C. Functional Organization of Repeat Addition Processivity and DNA Synthesis Determinants in the Human Telomerase Multimer. **Molecular and Cellular Biology**, v. 24, n. 9, p. 3720–3733, 2004.

MUNISHKINA, L. A.; FINK, A. L. Fluorescence as a method to reveal structures and membrane-interactions of amyloidogenic proteins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1768, n. 8, p. 1862–1885, 2007.

MUSGROVE, C.; JANSSON, L. I.; STONE, M. D. New perspectives on telomerase RNA structure and function. **Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA**, v. 9, n. 2, p. e1456, 2018.

NGUYEN, T. H. D.; TAM, J.; WU, R. A.; et al. Cryo-EM structure of substrate-bound human telomerase holoenzyme. **Nature**, v. 557, n. 7704, p. 190–195, 2018.

PATRA, A. K.; MUKHOPADHYAY, R.; MUKHIJA, R.; et al. Optimization of Inclusion Body Solubilization and Renaturation of Recombinant Human Growth Hormone from *Escherichia coli*. **Protein Expression and Purification**, v. 18, n. 2, p. 182–192, 2000.

PAVANI, R. S.; FERNANDES, C.; PEREZ, A. M.; et al. RPA-1 from *Leishmania amazonensis* (LaRPA-1) structurally differs from other eukaryote RPA-1 and interacts with telomeric DNA via its N-terminal OB-fold domain. **FEBS Letters**, v. 588, n. 24, p. 4740–4748, 2014.

PENG, Y.; MIAN, I. S.; LUE, N. F. Analysis of telomerase processivity: mechanistic similarity to HIV-1 reverse transcriptase and role in telomere maintenance. **Molecular cell**, v. 7, n. 6, p. 1201–11, 2001.

PHATAK, P.; BURGER, A. M. Telomerase and its potential for therapeutic intervention. **British Journal of Pharmacology**, v. 152, n. 7, p. 1003–1011, 2009.

POGACIĆ, V.; DRAGON, F.; FILIPOWICZ, W. Human H/ACA small nucleolar RNPs and telomerase share evolutionarily conserved proteins NHP2 and NOP10. **Molecular and cellular biology**, v. 20, n. 23, p. 9028–40, 2000.

POLSHAKOV, V. I.; PETROVA, O. A.; PARFENOVA, Y. Y.; et al. NMR assignments of the N-terminal domain of *Ogataea polymorpha* telomerase reverse transcriptase. **Biomolecular NMR Assignments**, v. 10, n. 1, p. 183–187, 2016.

RICE, C.; SKORDALAKES, E. Structure and function of the telomeric CST complex. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 14, p. 161–7, 2016. Research Network of Computational and Structural Biotechnology.

RICHARDS, R. J.; THEIMER, C. A.; FINGER, L. D.; FEIGON, J. Structure of the *Tetrahymena thermophila* telomerase RNA helix II template boundary element. **Nucleic Acids Research**, v. 34, n. 3, p. 816–825, 2006. Oxford University Press.

ROBART, A. R.; COLLINS, K. Human Telomerase Domain Interactions Capture DNA for TEN Domain-Dependent Processive Elongation. **Molecular Cell**, v. 42, n. 3, p. 308–318, 2011.

ROUDA, S.; SKORDALAKES, E. Structure of the RNA-Binding Domain of Telomerase: Implications for RNA Recognition and Binding. **Structure**, v. 15, n. 11, p. 1403–1412, 2007.

SANDHU, R.; SANFORD, S.; BASU, S.; et al. A trans-spliced telomerase RNA dictates telomere synthesis in *Trypanosoma brucei*. **Cell Research**, v. 23, n. 4, p. 537–551, 2013.

SANDIN, S.; RHODES, D. Telomerase structure. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 25, p. 104–110, 2014. Elsevier Ltd.

SARAFIANOS, S. G.; DAS, K.; TANTILLO, C.; et al. Crystal structure of HIV-1 reverse transcriptase in complex with a polypurine tract RNA:DNA. **The EMBO journal**, v. 20, n. 6, p. 1449–61, 2001. European Molecular Biology Organization.

- SAUERWALD, A.; SANDIN, S.; CRISTOFARI, G.; et al. Structure of active dimeric human telomerase. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 20, n. 4, p. 454–460, 2013.
- SCHMIDT, J. C.; CECH, T. R. Human telomerase: biogenesis, trafficking, recruitment, and activation. **Genes & development**, v. 29, n. 11, p. 1095–105, 2015. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SCHMUTZ, I.; LANGE, T. DE. Shelterin. **Current Biology**, v. 26, p. 387–407, 2016.
- SEKARAN, V.; SOARES, J.; JARSTFER, M. B. Telomere Maintenance as a Target for Drug Discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 3, p. 521–538, 2014.
- SEN, T. Z.; JERNIGAN, R. L.; GARNIER, J.; KLOCZKOWSKI, A. GOR V server for protein secondary structure prediction. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 21, n. 11, p. 2787–8, 2005. NIH Public Access.
- SILVA, M. S. DA; PAVANI, R. S.; DAMASCENO, J. D.; et al. Nuclear DNA Replication in Trypanosomatids: There Are No Easy Methods for Solving Difficult Problems. **Trends in Parasitology**, v. 33, n. 11, p. 858–874, 2017.
- SILVA, M. S. DA; PEREZ, A. M.; SILVEIRA, R. D. C. V DA; et al. The Leishmania amazonensis TRF (TTAGGG repeat-binding factor) homologue binds and co-localizes with telomeres. **BMC microbiology**, v. 10, p. 136, 2010.
- SILVA, M. S. DA; SILVEIRA, R. C. V. DA; PEREZ, A. M.; et al. Nuclear DNA replication in trypanosomatid protozoa. In: L. L.P. (Ed.); **DNA Replication and Mutation**. p.123–177, 2013. New York: Nova Science Publishers INC.
- SILVEIRA, R. D. C. V. DA; SILVA, M. S. DA; NUNES, V. S.; PEREZ, A. M.; CANO, M. I. N. The natural absence of RPA1N domain did not impair Leishmania amazonensis RPA-1 participation in DNA damage response and telomere protection. **Parasitology**, v. 140, n. 04, p. 547–559, 2013.
- SIMPSON, A.; GILL, E. E.; CALLAHAN, H. A.; LITAKER, R. W.; ROGER, A. J. Early Evolution within Kinetoplastids (Euglenozoa), and the Late Emergence of Trypanosomatids. **Protist**, v. 155, n. 4, p. 407–422, 2004.
- SINGH, A.; UPADHYAY, V.; UPADHYAY, A. K.; SINGH, S. M.; PANDA, A. K. Protein recovery from inclusion bodies of Escherichia coli using mild solubilization process. **Microbial cell factories**, v. 14, p. 41, 2015. BioMed Central.
- SINGH, S. M.; PANDA, A. K. Solubilization and refolding of bacterial inclusion body proteins. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 99, n. 4, p. 303–310, 2005.
- SIQUEIRA-NETO, J. L.; LIRA, C. B. B.; GIARDINI, M. A.; et al. Leishmania replication protein A-1 binds in vivo single-stranded telomeric DNA. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 358, n. 2, p. 417–23, 2007.
- SODING, J.; BIEGERT, A.; LUPAS, A. N. The HHpred interactive server for protein homology detection and structure prediction. **Nucleic Acids Research**, v. 33, n. Web Server, p. W244–W248, 2005.
- SPOEL, D. VAN DER; LINDAHL, E.; HESS, B.; et al. GROMACS: Fast, flexible, and free. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1701–1718, 2005.
- SREERAMA, N.; WOODY, R. W. Estimation of Protein Secondary Structure from Circular Dichroism Spectra: Comparison of CONTIN, SELCON, and CDSSTR Methods with an Expanded Reference Set. **Analytical Biochemistry**, v. 287, n. 2, p. 252–260, 2000.
- TAGGART, A. K. P.; TENG, S.-C.; ZAKIAN, V. A. Est1p As a Cell Cycle-Regulated Activator of Telomere-Bound Telomerase. **Science**, v. 297, n. 5583, p. 1023–1026, 2002.
- THEIMER, C. A.; BLOIS, C. A.; FEIGON, J. Structure of the Human Telomerase RNA Pseudoknot Reveals Conserved Tertiary Interactions Essential for Function. **Molecular Cell**, v. 17, n. 5, p. 671–682, 2005.

- VALLEJO, L. F.; RINAS, U. Strategies for the recovery of active proteins through refolding of bacterial inclusion body proteins. **Microbial cell factories**, v. 3, n. 11, 2004.
- VASCONCELOS, E. J. R.; NUNES, V. S.; SILVA, M. S. DA; et al. The putative Leishmania telomerase RNA (LeishTER) undergoes trans-splicing and contains a conserved template sequence. **PloS one**, v. 9, n. 11, p. e112061, 2014.
- VIJAYAKUMAR, S.; DAS, P. Recent progress in drug targets and inhibitors towards combating leishmaniasis. **Acta Tropica**, 2018.
- VIVIESCAS, M. A.; SEGATTO, M.; CANO, M. I. N. Chaperones and Their Role in Telomerase Ribonucleoprotein Biogenesis and Telomere Maintenance. **Current Proteomics**, v. In press, 2018.
- WALLACE, A. C.; LASKOWSKI, R. A.; THORNTON, J. M. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. **Protein engineering**, v. 8, n. 2, p. 127–34, 1995.
- WANG, Y.; FEIGON, J. Structural biology of telomerase and its interaction at telomeres. **Current opinion in structural biology**, v. 47, p. 77–87, 2017.
- WATSON, J. D. Origin of concatemeric T7 DNA. **Nature: New biology**, v. 239, n. 94, p. 197–201, 1972.
- WEINRICH, S. L.; PRUZAN, R.; MA, L.; et al. Reconstitution of human telomerase with the template RNA component hTR and the catalytic protein subunit hTRT. **Nature Genetics**, v. 17, n. 4, p. 498–502, 1997.
- WHITMORE, L.; WALLACE, B. A. Protein secondary structure analyses from circular dichroism spectroscopy: Methods and reference databases. **Biopolymers**, v. 89, n. 5, p. 392–400, 2008.
- WOJTYLA, A.; GLADYCH, M.; RUBIS, B. Human telomerase activity regulation. **Molecular Biology Reports**, v. 38, n. 5, p. 3339–3349, 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Research priorities for Chagas disease, human African trypanosomiasis and leishmaniasis. **World Health Organization technical report series**, , n. 975, p. v–xii, 1-100, 2012.
- WU, R. A.; DAGDAS, Y. S.; YILMAZ, S. T.; YILDIZ, A.; COLLINS, K. Single-molecule imaging of telomerase reverse transcriptase in human telomerase holoenzyme and minimal RNP complexes. **eLife**, v. 4, 2015.
- WU, R. A.; UPTON, H. E.; VOGAN, J. M.; COLLINS, K. Telomerase Mechanism of Telomere Synthesis. **Annu. Rev. Biochem**, v. 86, p. 439–60, 2017.
- WYATT, H. D. M.; WEST, S. C.; BEATTIE, T. L. InTERTpreting telomerase structure and function. **Nucleic Acids Research**, v. 38, n. 17, p. 5609–5622, 2010.
- XIA, J.; PENG, Y.; MIAN, I. S.; LUE, N. F. Identification of functionally important domains in the N-terminal region of telomerase reverse transcriptase. **Molecular and cellular biology**, v. 20, n. 14, p. 5196–207, 2000.
- XIE, M.; PODLEVSKY, J. D.; QI, X.; BLEY, C. J.; CHEN, J. J.-L. A novel motif in telomerase reverse transcriptase regulates telomere repeat addition rate and processivity. **Nucleic acids research**, v. 38, n. 6, p. 1982–96, 2010. Oxford University Press.
- ZHANG, H. Molecular signaling and genetic pathways of senescence: Its role in tumorigenesis and aging. **Journal of Cellular Physiology**, v. 210, n. 3, p. 567–574, 2007.